

3. Klein E. Direct determination of latent iron-binding capacity of the blood. *Acta Haematol.* 1957; 17: 263-70.
4. Carter P. Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). *Anal Biochem.* 1971; 40: 450-8.

Summary

Ramakers C, Tribak M, Kluiters-de Hingh Y. Total iron binding capacity in the SKML general chemistry round-robin. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2011; 36: 153-156.

The total iron binding capacity (TIBC) can be calculated from the transferrin concentration (transferrin \times 25) or by adding up the serum iron concentration and the latent iron binding capacity (LIBC). Both methods for calculating TIBC are part of the Dutch external quality assessment scheme (EQAS) for clinical chemistry. With the evaluation of the 2010.1 quarterly report, two samples stood out because of negative LIBC concentrations. A retrospective data analysis of patient results did not yield negative LIBC, showing that the negative LIBC in the EQAS samples are non-physiological and probably the result of extremely high iron concentrations due to spiking of the EQAS samples. Substantial spiking with iron will exceed the iron binding capacity of transferrin resulting in unbound ionized iron in those EQAS samples. This is the most likely cause of the negative LIBC concentrations.

Per year, the EQAS scheme for clinical chemistry makes use of a single transferrin concentration. Consequently this will result in structural TIBC differences between the transferrin method and the LIBC method in situations where the iron concentration exceeds the transferrin binding capacity and unbound ionized iron is present.

TIBC concentrations calculated with negative LIBC concentration need to be excluded from the EQAS for clinical chemistry, preferably this has to be done in consensus with all LIBC method users.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2011; 36: 156-161

Toxicologisch onderzoek naar drugs in haar

E.J.M. PENNINGS

De laatste jaren is de onrust toegenomen over de interpretatie van de resultaten van toxicologisch onderzoek naar drugs in menselijke haren. De reden hiervan is dat externe contaminatie van haren met cocaïne kan leiden tot onverwacht hoge opname van cocaïne in het haar, afhankelijk van de porositeit van het haar. Het is daarom noodzakelijk het haar op de juiste wijze te wassen voorafgaand aan de chemische analyse. Er bestaat echter geen consensus onder wetenschappers over de juiste wasprocedure. Wel is duidelijk dat wassen van haar met enkel een organisch oplosmiddel onvoldoende is en dat aanvullend wassen met een wa-

The Dutch EQAS for clinical chemistry has a limited analytical variation in transferrin concentrations. Consequently, the TIBC variation based on transferrin is equally limited. Because the EQAS of choice for transferrin is the immunochemistry scheme, it is questionable whether the EQAS for clinical chemistry, with its limited variation in transferrin concentrations, is the most suited scheme for reporting the TIBC.

Keywords: TIBC; LIBC; transferrin; EQAS; clinical chemistry

Reactie sectie algemene chemie van de SKML, organisator van de Combi Algemene Chemie (CAC) enquête

Wij danken Ramakers et al. voor hun analyse van het probleem dat sommige rondzendmonsters een negatieve LIJBC en daarmee TIJBC kennen in de Combi Algemene Chemie (CAC) enquête. Wij delen hun conclusie dat dit waarschijnlijk veroorzaakt wordt door het toevoegen van ijzer aan de rondzendmonsters.

Om een indruk te geven van de ijzerbindingscapaciteit in serum of plasma wordt door de meeste laboratoria tegenwoordig het transferrinegehalte immunochemisch bepaald en transferrine en/of TIJBC (berekend uit transferrine) gerapporteerd. De transferrine saturatie kan vervolgens uit de transferrine en ijzer concentraties berekend worden. Omdat de meeste laboratoria het transferrine bepalen en transferrine onderdeel is van de Combi Immunochemie enquête van de SKML zou de TIJBC in de CAC geschrapt kunnen worden. Voor het zeer geringe aantal laboratoria dat nog LIJBC of TIJBC meet, zou de TIJBC aan de Combi Immunochemie enquête toegevoegd kunnen worden. Tot die tijd moeten negatieve TIJBC in CAC monsters niet naar de SKML ingestuurd worden om verwarring te voorkomen.

terige oplossing noodzakelijk is om het haar te doen zwellen en externe verontreinigingen die het haar zijn binnengedrongen, te verwijderen.

Trefwoorden: toxicologie; drugs; haar; analyse; wasprocedure

De laatste jaren is de onrust toegenomen over de interpretatie van de resultaten van toxicologisch onderzoek naar drugs in menselijke haren. De reden hiervan is dat externe contaminatie van haren met cocaïne kan leiden tot onverwacht hoge afzetting van cocaïne in het haar. Een aantal recente bevindingen laat zien dat kunstmatig op haar aangebrachte cocaïne het haar kan binnendringen in concentraties die overeenkomen met de concentraties die worden teruggevonden in het haar van cocaïnegebruikers (1-3). Het gevolg hiervan is dat externe contaminatie van haar met cocaïne er toe kan

Correspondentie: dr. E.J.M. Pennings. G.Rietveldlaan 19, 2343 MA Oegstgeest. E-mail: e.j.m.pennings@planet.nl. Afd. Pathologie en Toxicologie, Nederlands Forensisch Instituut, Postbus 24044, 2490 AA Den Haag
E-mail: e.j.m.pennings@planet.nl

leiden dat een onschuldig persoon wordt beschuldigd van cocaïnegebruik. Dat is mogelijk als het haar niet op de juiste wijze wordt gewassen voorafgaand aan de analyse. Er bestaat echter geen consensus onder wetenschappers over de juiste wasprocedure (4, 5). Daarom heeft het Amerikaanse FBI-laboratorium dergelijke analyses voorlopig opgeschort bij personen die beroepsmatig of om andere reden in aanraking komen met cocaïne en bij wie externe contaminatie een onderdeel van de vraagstelling is (6). Om de problematiek te verduidelijken wordt hieronder eerst uitleg gegeven over de structuur van haar en over de inbouw van stoffen in haar.

Structuur van haar

Haar heeft een complexe structuur met - sterk vereenvoudigd - aan het oppervlak de afdeklaag (cuticula), daarbinnen de schors (cortex) en in het midden het zachte merg (medulla) (7-9). De cuticula is een afdeklaagje van schuin over elkaar geplaatste cellen, zoals de pannen op een dak. Deze cellen dienen als bescherming van het haar en houden de cortex bijeen. Zonder cuticula kan de cortex gemakkelijk beschadigd raken en wordt het haar fragiel, breekbaar en poreus. Dicht bij de wortel (groeipunt) van een haar is de cuticula intact, maar naar de punt (uiteinde) van het haar toe zijn er steeds meer beschadigingen te zien en bij extreem lang haar kan de cuticula aan het uiteinde zelfs geheel verdwenen zijn. De cortex bestaat uit bundels van microfibrillen rijk aan keratine, een eiwit dat door zijn speciale structuur sterkte geeft aan het haar. Deze microfibrillen bestaan uit verschillende alfa-keratineketens in elkaar gewonden in een helixstructuur. Deze ketens zijn bovendien stevig aan elkaar gekoppeld door middel van dwarsverbindingen (zogenoemde disulfidebruggen). De cortex geeft de sterkte aan het haar. De medulla is een relatief zachte binnenlaag van cellen, rijk aan vacuolen en intercellulair lucht. Soms is de medulla afwezig.

Alhoewel de structuur van het haar tussen individuen in grote lijnen overeenkomt, kan men toch duidelijke verschillen zien, zoals bijvoorbeeld tot uiting komt in de kleur, de dikte en de krulling van het haar. Ook binnen een individu bestaan verschillen. Afhankelijk van de locatie op het lichaam onderscheidt men onder andere hoofdhaar, baardhaar, okselhaar, borsthaar en schaamhaar. Daarnaast is het huidoppervlak bedekt met vele korte haren, met uitzondering van de voetzool en de handpalm. Tussen al deze haarsoorten kunnen verschillen bestaan in groeisnelheid en duur van de verschillende groeifasen.

Haargroei en inbouw van stoffen

Haar groeit vanuit de haarfollikel in een cyclisch proces, dat wil zeggen dat perioden van groei en rust elkaar afwisselen. Om deze reden ziet men de haarfollikel wel als een dynamisch mini-orgaan met een eigen cyclus van groei en verval (10). Iedere nieuwe groeiperiode begint met de vorming van een nieuwe haar die de oude haar gaat verdringen. De actieve groei (celdeling) vindt plaats in het onderste deel van de follikel: de haarwortel of het haarzakje met daarin de zogenoemde papilla. De haarwortel bevindt zich

in de huid ongeveer 3-5 mm onder het huidoppervlak. Tijdens de groei van het haar wordt de follikel gevoed door het bloed in de capillairvaatjes die door de papilla en langs de follikel lopen. Het bloed levert zo de voedingsstoffen en de bouwstenen (eiwitten, lipiden, water) voor de groei van het haar (4, 7, 11).

Ook lichaamsvreemde stoffen in het bloed kunnen via de capillairvaatjes de cellen bereiken waaruit het haar wordt opgebouwd, en op die manier in het haar worden ingebouwd. Inbouw vindt primair plaats tijdens de groei van het haar. Hierbij gelden algemene farmacologische principes. Lipofiele stoffen worden relatief gemakkelijk ingebouwd, hydrofiele stoffen relatief moeilijk. Dit heeft te maken met het feit dat lipofiele stoffen relatief gemakkelijk de celmembranen kunnen passeren en hydrofiele stoffen relatief moeilijk.

Naast inbouw vanuit de haarvaatjes kunnen stoffen het haar ook bereiken via een omweg, namelijk via talgklieren die in de huid het haar omgeven, en via zweet op de huid (4, 5). Stoffen in het bloed komen namelijk ook in talg- en zweetklieren terecht en in het afscheidingsmateriaal van deze klieren. Vooral lipiden, maar ook lichaamsvreemde stoffen zoals drugs en geneesmiddelen, kunnen op die manier aan de buitenkant van het haar worden afgezet, waar ze onder invloed van water (in zweet) het haar kunnen binnendringen (4, 12). Binnendringen vanuit zweet en talg lijkt sterk op binnendringen als gevolg van externe verontreiniging en is hier vermoedelijk niet van te onderscheiden met chemische analysemethoden.

Inbouw vanuit bloed en het binnendringen vanuit zweet en talg komen beide tot stand als gevolg van inwendige blootstelling. Met gevoelige analytisch-chemische technieken kunnen lichaamsvreemde stoffen die in haar zijn ingebouwd, worden teruggevonden. Omdat die stoffen worden ingebouwd op het moment van de haarvorming, kan men door haaranalyses als het ware terugkijken in de tijd. Ieder haarsegment vormt een afspiegeling van de samenstelling van het bloed op het moment van de haarvorming. Men kan haar dus beschouwen als een bandrecorder van blootstelling in het verleden.

Groeicyclus

In de cyclus van de haargroei onderscheidt men drie fasen van de follikel: anageen, catageen en telogeen. De anagene fase is de periode van actieve groei vanuit de haarfollikel. Men schat dat die fase voor hoofdhaar gemiddeld ongeveer 3 jaar is (2-6 jaar) (4, 5, 8). De telogene fase is de rustfase waarin een haar niet meer groeit, maar nog wel vastzit in de huid. Deze fase duurt totdat de follikel opnieuw haar begint te vormen. Dit is nog voordat de oude haar door de nieuwe haar uit de huid wordt geduwd. De follikel begint dus eerder te groeien dan dat de oude haar uitvalt. De telogene fase voor hoofdhaar bij de mens wordt geschat op gemiddeld ongeveer 3 maanden. De catagene fase is de tussenliggende fase waarin de haargroei snel afneemt en de follikel zich in een fase van verval bevindt. De catagene fase duurt voor menselijk hoofdhaar maar enkele weken.

De duur van de groeifase en de rustfase verschilt aanzienlijk per haarsoort en is onder andere afhankelijk van de plaats op het lichaam. Hoofdhaar kent een veel

langere anagene fase dan schaam- en okselhaar. Dat is eenvoudig te zien aan de lengte die het haar kan bereiken. Die is voor hoofdhaar veel groter dan voor schaam- en okselhaar. Van schaam- en okselhaar schat men dat de groei- en rustfase ongeveer even lang zijn, namelijk 11-18 maanden voor beide haarsoorten (4, 9). Tijdens de rustfase is de inbouw van stoffen vanuit bloed gestopt, maar de afzetting - en binnendringen in het haar - vanuit talg en zweet gaan door, met name dichtbij het huidoppervlak en in schaam- en okselhaar dat zich in een warme, relatief vochtige omgeving bevindt. Daarom is de bijdrage van zweet en talg, relatief ten opzichte van bloed, aan de concentratie van stoffen in haar groter in schaam- en okselhaar dan in hoofdhaar met zijn groei- en rustfase van gemiddeld 3 jaar en 3 maanden. Het verschil in de verhouding van de duur van telogene tot anagene fase ziet men daarom als de oorzaak van de hogere concentraties van drugs die in schaam- en okselhaar zijn gevonden dan de concentraties in hoofdhaar (12, 13). In het algemeen blijkt die concentratie in schaam- en okselhaar een factor 1 à 3 hoger te zijn dan die in hoofdhaar (13-15), maar soms zijn de verschillen aanzienlijk groter (16). Niet alle haren op een bepaalde plaats op het lichaam bevinden zich tegelijk in de groeifase. Een deel is in groei en een deel is in rust. Van hoofdhaar is 10-18% in rust (telogeen), 80-90% in groei (anageen) en minder dan 2% in de overgang van groei naar rust (cageen). Dit geeft de verklaring waarom na chronisch gebruik van een lichaamsvreemde stof de halfwaardetijd in hoofdhaar ongeveer 1,5 maand is, terwijl die in bloed veel korter is (enkele uren tot enkele dagen) (17, 18). Bij afname van een haarmonster van het hoofd is namelijk altijd 10-18% in rust en niet verder gegroeid. De stoffen in dit telogene haar zijn van eerdere blootstelling en worden mee gemeten als men een nieuw haarsegment analyseert.

Haargroei-snelheid

De snelheid waarmee haar groeit is afhankelijk van het type haar en de plaats op het lichaam. Hoofdhaar van de vertex posterior groeit met een snelheid van ongeveer 0,35-0,55 mm per dag (gemiddeld 0,44 mm per dag bij mannen en 0,45 mm per dag bij vrouwen) (5, 8). Dit is ongeveer 1,0-1,6 cm per maand. Schaam- en okselhaar groeien langzamer (ongeveer 0,3 mm per dag), evenals baardhaar (ongeveer 0,27 mm per dag) (5, 9).

Uit de groeisnelheid van hoofdhaar volgt dat het ongeveer 10 dagen duurt voordat nieuw haar uit de haarwortel het oppervlak van de hoofdhuid heeft bereikt. Daarna duurt het nog ongeveer 3 à 4 weken voordat het haar zover is doorgesloten dat men eenvoudig een plukje kan knippen dat men kan analyseren. In de praktijk is het gewenst ten minste 4-6 weken na een voorval te wachten alvorens een plukje hoofdhaar af te knippen voor toxicologisch onderzoek. Met name hoofdhaar is geschikt voor toxicologisch onderzoek omdat de meeste hoofdhaaren (80-90%) zich in de groeifase - de fase van inbouw van stoffen - bevinden. Voor dit onderzoek moet het haar worden afgeknipt van de vertex posterior, dit is de kruin aan de achterzijde van het hoofd. De reden hiervan is dat de haar-

groeisnelheid daar het meest constant is en de analyse zo gestandaardiseerd wordt.

Toxicologisch onderzoek naar drugs in haar

Toxicologisch onderzoek in haar wordt veel gebruikt voor het verkrijgen van informatie over de blootstelling aan stoffen - zoals bijvoorbeeld metalen, sporenelementen, drugs en geneesmiddelen - in het verleden. Vanwege nieuwe gegevens over het binnendringen van cocaïne in haar na kunstmatige contaminatie wordt hieronder nader ingegaan op de problematiek rond het toxicologisch onderzoek naar cocaïne in haar.

Blootstelling aan cocaïne

Blootstelling aan cocaïne kan op verschillende manieren plaatsvinden, onder andere door orale inname ('slikken'), inhalatie van dampen ('basen', roken van 'crack'), intraveneuze injectie (inspuiting in een ader) en snuiven. Al deze vormen van blootstelling leiden tot inwendige of systemische blootstelling. Indien dit doelbewust gebeurt, spreekt men van actief gebruik. Passief gebruik doelt op onbedoeld of onbewust gebruik, bijvoorbeeld wanneer men beroepsmatig of per ongeluk wordt blootgesteld aan een stof (vergelijk passief roken). Dat kan gebeuren door inademing van een damp of stof in de omgevingslucht waarin men op dat moment werkt. Actief en passief gebruik van een stof leiden beide tot inwendige blootstelling en dientengevolge tot de inbouw van die stof in haar. Actief en passief gebruik kunnen dus niet van elkaar onderscheiden worden door de meting van een concentratie in haar. Omdat men ervan uit gaat dat actief gebruik van drugs tot veel grotere inwendige blootstelling leidt dan passief gebruik van een stof, heeft men drempelwaarden geïntroduceerd voor actief gebruik. De aanwezigheid van een stof boven die drempelwaarde zou de conclusie van actief gebruik rechtvaardigen. Er zijn echter diverse scenario's van blootstelling denkbaar en het is volstrekt onduidelijk hoe de concentraties in haar afhangen van de verschillende scenario's. Wat in de literatuur ontbreekt zijn epidemiologische gegevens over de concentraties in haar bij verschillende blootstellingsscenario's. Dergelijke drempelwaarden mogen daarom alleen als een richtlijn worden gezien en zijn niet absoluut. Met andere woorden: de aanwezigheid van een drug in haar boven de drempelwaarde geeft nog geen zekerheid over actief gebruik in de zin van doelbewuste consumptie van die drug (3, 4, 19-21).

Contaminatie en decontaminatie van haar

Uitwendige verontreiniging van haar kan plaatsvinden wanneer stoffen in de omgevingslucht aan de buitenkant van het haar blijven plakken. Dat kan optreden als een stof zich in dampvorm of als stofdeeltjes in de omgevingslucht bevindt. Het kan ook optreden als men poeder van een stof aan de vingers krijgt en vervolgens met de handen door het haar strijkt. Het blijven plakken van stofdeeltjes aan haar is een realistisch scenario vanwege de statisch-elektrische eigenschappen van haar. Haar heeft daardoor de eigenschap stofdeeltjes aan te trekken. Ongeacht de wijze waarop het plaatsvindt, noemen we deze vormen van verontreiniging hier gezamenlijk externe verontreiniging (externe

contaminatie). Als men deze verontreinigingen niet weg wast voorafgaand aan de chemische analyse, meet men feitelijk de totale hoeveelheid van een stof in en op het haar: dit is de som van inwendige blootstelling en externe verontreiniging.

De afzetting van een stof op het haar neemt toe met de duur van de blootstelling aan die stof in de omgevingslucht. De kans op de aanwezigheid van een drug in haar is dus groter bij niet-gebruikers die regelmatig in aanraking komen met die drug in de omgevingslucht dan bij niet-gebruikers die daar nooit mee in aanraking komen. Het betekent ook dat bij niet-gebruikers die regelmatig in aanraking zijn gekomen met een drug in de omgevingslucht, de kans op de aanwezigheid daarvan groter is in telogen haar dan in anageen haar. Dat komt omdat telogen haar ouder is en langer is blootgesteld dan anageen haar. Bovendien neemt die kans toe van de haarwortel naar de haarpunt omdat naar de punt toe haar meer beschadigd en poreus is (22, 23).

Al in de negentiger jaren werd duidelijk dat externe verontreinigingen van cocaïne op haar gemakkelijk kunnen binnendringen in het haar (22, 24, 25). Bovendien bleek dat cocaïne opgelost in water dieper kan binnendringen in het haar dan cocaïne dat als damp op het haar terecht is gekomen (22). De verklaring hiervoor was dat water het haar doet zwellen en door capillairwerking het haar binnendringt. In water opgeloste stoffen worden hierbij meegenomen. De porositeit speelt hierin een belangrijke rol. Beschadigingen aan de cuticula maken het haar poreus en poreus haar is toegankelijker voor water dan haar met een intacte cuticula (3, 25). Dit betekent dat naar de haarpunt toe, waar de cuticula steeds meer beschadigd is, cocaïne relatief gemakkelijk kan binnendringen onder invloed van water, en derhalve ook onder invloed van zweet. In onderzoek uit 2001 werd opnieuw duidelijk dat aantoonbare hoeveelheden cocaïne (> 1 ng/mg haar) naast geringe hoeveelheden benzoylecgonine ($< 0,5$ ng/mg haar) tot tien weken na kunstmatige contaminatie aanwezig waren in haar, ook na het wassen met een fosfaatbuffer (26). Deze resultaten wezen op diep binnendringen van cocaïne in haar, die bovendien nog toeneemt met de tijd.

Om inwendige blootstelling te kunnen onderscheiden van externe verontreiniging is het dus noodzakelijk het haar voorafgaand aan de chemische analyse op een zodanige manier te wassen dat naar binnen gedrongen stoffen worden verwijderd. Hiervoor zijn verschillende wasprocedures ontwikkeld, maar tot op heden is er geen overeenstemming in de wetenschappelijke wereld wat de beste wasprocedure is (4, 27, 28). De richtlijn van de Society of Hair Testing (SOHT) uit 2004 is het haar eerst te wassen met een organisch oplosmiddel en daarna te wassen met waterige vloeistoffen (aqueous washes) (29). De verschillende wasfracties dienen bewaard te blijven voor eventuele nadere analyse. Sinds 2006 is de discussie over de juiste wasprocedure opnieuw opgelaaaid toen bleek dat aanzienlijke hoeveelheden cocaïne, die kunstmatig op het haar zijn aangebracht, het haar kunnen binnendringen en er niet eenvoudig zijn uit te wassen (2).

Evaluatie van wasprocedures na kunstmatige verontreiniging van haar met cocaïne

Voor zover beschreven is uitsluitend humaan hoofdhaar gebruikt om de effectiviteit van wasprocedures voor externe verontreinigingen met cocaïne te evalueren. Dergelijk onderzoek is er niet voor oksel-, schaam- en borsthaar. Schaffer et al (2002) vonden dat enkel wassen met methanol of isopropanol onvoldoende was om kunstmatig aangebrachte cocaïneverontreinigingen te verwijderen (30). Elf van de 14 haarmonsters bleken meer dan 0,5 ng cocaïne per mg haar, de drempelwaarde voor een positieve uitslag volgens de SOHT (29), te bevatten. Wassen met isopropanol en daarna 5 maal met een fosfaatbuffer bleek wel effectief. Hun onderzoek betreft evenwel een klein aantal ($n=14$) haarmonsters. Om te corrigeren voor de achterblijvende hoeveelheid cocaïneverontreiniging introduceerde deze groep (Psychomedics Co.) het wascriterium (31). Dit criterium houdt in dat de concentratie van ingebouwd cocaïne in haar wordt geschat door 5 maal de concentratie in de laatste wasfractie af te trekken van de gemeten concentratie in het haar. In 2004 bevestigde deze groep de effectiviteit van hun wasprocedure in een klinische gebruikerspopulatie (positief analyseresultaat) en in een populatie van niet-gebruikers (negatief analyseresultaat) (32). Dat zegt overigens nog niets over niet-gebruikers die toevallig of beroepsmatig aan cocaïne worden blootgesteld. Een dergelijke groep is namelijk niet onderzocht door hen (32).

Opvallend resultaat van het onderzoek van Cairns et al. (2004) is de afwezigheid van een verband tussen de kleur van het haar en de hoeveelheid cocaïne die het haar binnendringt, zoals weerspiegeld in de som der concentraties in de wasfracties (31). Volgens deze onderzoekers bepaalt vooral de porositeit - en niet de haarkleur - de mate waarin extern aangebracht cocaïne het haar kan binnendringen. Dit resultaat is later bevestigd door anderen (2), die evenmin een verband vonden tussen haarkleur en concentraties van naar binnen gedrongen cocaïne na kunstmatige verontreiniging van het haar. Dit heeft belangrijke consequenties omdat de concentraties van stoffen in poreus haar - zoals oud en beschadigd haar - dus een vertekend beeld kunnen geven van de inwendige blootstelling gedurende een bepaalde periode.

Met name de behandeling van haar met een kunstmatige zweetoplossing bleek een aanzienlijke hoeveelheid kunstmatig aangebracht cocaïne het haar in te transporteren, maar die hoeveelheid kon er wel weer grotendeels - maar niet geheel - uit worden verwijderd door het haar vijfmaal te wassen met fosfaatbuffer (31). Ook drie behandelingen met shampoo bleken al aanzienlijke hoeveelheden cocaïne te kunnen verwijderen, maar in sommige haarmonsters bleek toch nog tot 10 ng/mg achter te blijven (zie tabel 7 in referentie 31). Vergelijkbare resultaten werden gevonden voor morfine, methamfetamine en fencyclidine. In een latere Letter tot the Editor benadrukken de auteurs dat het belangrijkste doel van het wassen van het haar en het bepalen van de concentraties in de verschillende wasfracties niet alleen het verwijderen van verontreinigingen is, maar ook het kunnen bestempelen van een

haarmonster als extern verontreinigd (33).

In vervolgonderzoeken zijn bovenstaande resultaten bevestigd. Schaffer et al. (2005) vonden dat de som van de hoeveelheid cocaïne in de wasfracties in sommige gevallen ruim 20 keer zo groot was als de hoeveelheid cocaïne in het haar (1). De auteurs concluderen dan ook dat het noodzakelijk is haarmonsters grondig te wassen om verontreinigde monsters als zodanig te identificeren en niet-gebruikers te beschermen tegen onjuiste beschuldigingen.

Het onderzoek van Stout et al (2006) laat opnieuw zien dat, wanneer cocaïne op drug-free haar wordt gewreven en het haar vervolgens wordt blootgesteld aan vocht (shampoo of kunstmatig zweet), kleine hoeveelheden cocaïne hardnekkig in haar kunnen achterblijven en niet kunnen worden weggewassen door dagelijkse wassingen met shampoo en een wasprocedure in het laboratorium voorafgaand aan de analyse (2). Dit onderzoek was opgezet om haarmonsters te ontwikkelen voor een proficiency-testing-programma. De auteurs concludeerden dat de verschillende wasprocedures van laboratoria leiden tot variabiliteit in de resultaten en dat extern verontreinigde haarmonsters kunnen worden bestempeld als positief volgens de SAMSHA-criteria voor Work Place Drug Testing (34). Het onderzoek laat ook zien dat de benzoylecgonine/cocaïne-ratio in kunstmatig met cocaïne verontreinigd haar in vitro met de tijd toenam (2). Volgens de auteurs kan dit wijzen op vorming van benzoylecgonine in haar of op een verschil in de snelheid waarmee benzoylecgonine en cocaïne uit haar worden weggewassen door shampoo en/of water. Op de publicatie van Stout et al. (2006) is kritiek geuit door Schaffer et al (2007) vanwege het feit dat zij de resultaten van de drie deelnemende laboratoria had samengevoegd en niet apart vermeld (33). Op die manier kan natuurlijk geen indruk worden verkregen van de individuele prestaties van de deelnemende laboratoria. De onderzoeksgroep van Schaffer et al. (2007) van Psychomedics Co. is die welke het wascriterium propageert na de uitgebreide wasprocedure (zie boven) (33). Toepassing van dit wascriterium door deze groep leidde tot correcte identificatie van extern verontreinigde haarmonsters als zodanig (33). Ook is er kritiek geuit op de wijze waarop onderzoekers de haarmonsters kunstmatig hebben verontreinigd. Het haar zou namelijk zijn blootgesteld aan relatief grote hoeveelheden cocaïne onder irreële omstandigheden. Men moet echter voorzichtig zijn met zulke kritiek, omdat het niet bekend is hoeveel cocaïne in de praktijk op haar terecht kan komen in een omgeving waar cocaïne wordt gebruikt of ligt opgeslagen.

Negatieve analyseresultaten sluiten gebruik van cocaïne weliswaar uit, maar positieve resultaten kunnen tot stand komen zowel door cocaïnegebruik als door 'contact' met cocaïne. Diverse onderzoeksgroepen concluderen dan ook dat de aanwezigheid van cocaïne in haar weliswaar bewijswaarde heeft voor cocaïnegebruik, maar niet mag worden gezien als bewijs van cocaïnegebruik (6, 19, 35).

Conclusies en nabeschouwing

Het beeld dat uit het werk van verschillende onder-

zoekers (2, 3, 30-33) naar voren komt is dat extern aangebracht cocaïne het haar kan binnendringen onder invloed van kleine hoeveelheden water, zoals aanwezig in zweet. Eenmaal diep binnengedrongen kan cocaïne niet worden verwijderd door het haar te wassen met een organisch oplosmiddel. Daarvoor is een wasstap nodig met een waterige oplossing (shampoo of een buffer in water). Zo'n wasstap verwijdert geen of relatief weinig cocaïne in de diep gelegen gebieden van het haar, waar zich het cocaïne bevindt dat vanuit het bloed is ingebouwd. Die diep gelegen gebieden zijn niet of nauwelijks toegankelijk voor water (32).

Validatie van de wasprocedure dient standaard onderdeel te zijn van de validatie van de analysemethode. Hier ligt een wezenlijk probleem. Er bestaan namelijk geen controlemonsters van haar met bekende hoeveelheden cocaïne afkomstig van enerzijds inwendige blootstelling en anderzijds externe contaminatie. Men kan alleen extern verontreinigd controlehaar maken door haar van niet-gebruikers kunstmatig te verontreinigen met cocaïne, en daarnaast controlehaar gebruiken afkomstig van gebruikers met een onbekende hoeveelheid cocaïne in en op het haar als gevolg van inwendige blootstelling en externe verontreiniging. Validatie van de analysemethode moet gericht zijn op het kunnen onderscheiden van het eerst-genoemde controlehaar als echt-negatief en het laatst-genoemde haar als echt-positief. Daarnaast is het niet voldoende enkel haarmonsters van gebruikers en niet-gebruikers te analyseren tijdens de validatie van de methode: ook haarmonsters van personen die beroepsmatig (of op andere wijze) worden blootgesteld aan cocaïne moeten worden onderzocht tijdens het validatie-onderzoek en negatief worden bevonden.

Referenties

1. Schaffer M, Hill V, Cairns T. Hair analysis for cocaine: the requirement for effective wash procedures and effects of drug concentration and hair porosity in contamination and decontamination. *J Anal Toxicol* 2005; 29: 319-26.
2. Stout PR, Roper-Miller JD, Baylor MR, Mitchell JM. External contamination of hair with cocaine: evaluation of external cocaine contamination and development of performance-testing materials. *J Anal Toxicol* 2006; 30: 490-500.
3. Hill V, Cairns T, Schaffer M. Hair analysis for cocaine: factors in laboratory contamination studies and their relevance to proficiency sample preparation and hair testing practices. *Forensic Sci Int* 2008; 176: 23-33.
4. Pragst F, Balikova MA. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clin Chim Acta* 2006; 370: 17-49.
5. Boumba VA, Ziavrou KS, Vougiouklakis T. Hair as a biological indicator of drug use, drug abuse or chronic exposure to environmental toxicants. *Int J Toxicol* 2006; 25: 143-63.
6. LeBeau MA, Montgomery MA. Considerations on the utility of hair analysis for cocaine. *J Anal Toxicol* 2009; 33: 343-4.
7. Tobin DJ. The biogenesis and growth of human hair. In: *Hair in toxicology: an important biomonitor* (Tobin DJ, redacteur) Hfdst 1, p. 3-33. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 2005.
8. Paus R, Peker S, Sundberg JP. Biology of hair and nails. In: *Dermatology* (Bolognia JL, Jorizzo JL, Rapini RP, redacteurs), 2e ed. Hfdst 67, p. 965-87. Mosby (Elsevier), 2008.

9. Harkey MR. Anatomy and physiology of hair. *Forensic Sci Int* 1993; 63: 9-18.
10. Schneider MR, Schmidt-Ullrich R, Paus R. The hair follicle as a dynamic miniorgan. *Curr Biol* 2009; 19: R132-42.
11. Kintz P, Cirimele V, Ludes B. Pharmacological criteria that can affect the detection of doping agents in hair. *Forensic Sci Int* 2000; 107: 325-34.
12. Kintz P, Villain M. Hair in forensic toxicology with a special focus on drug-facilitated crime. In: *Hair in toxicology: an important biomonitor* (Tobin DJ, redacteur) Hfd. 4, p. 89-103. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 2005.
13. Musshoff F, Driever F, Lachenmeier K, Lachenmeier DW, Banger M, Madea B. Results of hair analyses for drugs of abuse and comparison with self-reports and urine tests. *Forensic Sci Int* 2006; 156: 118-23.
14. Han E, Yang W, Lee J, Park Y, Kim E, Lim M, Chung H. Correlation of methamphetamine results and concentrations between head, axillary, and pubic hair. *Forensic Sci Int* 2005; 147: 21-4.
15. Offidani C, Strano RS, Chiarotti M. Drug distribution in the head, axillary and pubic hair of chronic addicts. *Forensic Sci Int* 1993; 63: 105-8.
16. Lee S, Han E, In S, Choi H, Chung H, Chung KH. Analysis of pubic hair as an alternative specimen to scalp hair: A contamination issue. *Forensic Sci Int* 2011; 206: 19-21.
17. Felli M, Martello S, Marsili R, Chiarotti M. Disappearance of cocaine from human hair after abstinence. *Forensic Sci Int* 2005; 154: 96-8.
18. Garcia-Bournissen F, Moller M, Nesterenko M, Karaskov T, Koren G. Pharmacokinetics of disappearance of cocaine from hair after discontinuation of drug use. *Forensic Sci Int* 2009; 189: 24-7.
19. Pragst F, Sachs H, Kintz P. Hair analysis for cocaine continues to be a valuable tool in forensic and clinical toxicology. *J Anal Toxicol.* 2010; 34: 354-5.
20. Romano G, Barbera N, Spadaro G, Valenti V. Determination of drugs of abuse in hair: evaluation of external heroin contamination and risk of false positives. *Forensic Sci Int.* 2003; 131: 98-102.
21. Tsanaclis L, Wicks JF. Differentiation between drug use and environmental contamination when testing for drugs in hair. *Forensic Sci Int* 2008; 176: 19-22.
22. Wang WL, Cone EJ. Testing human hair for drugs of abuse. IV. Environmental cocaine contamination and washing effects. *Forensic Sci Int* 1995; 70: 39-51.
23. Hoelzle C, Scheufler F, Uhl M, Sachs H, Thieme D. Application of discriminant analysis to differentiate between incorporation of cocaine and its congeners into hair and contamination. *Forensic Sci Int* 2008; 176: 13-8.
24. Baumgartner WA, Hill VA. Sample preparation techniques. *Forensic Sci Int* 1993; 63: 121-35.
25. Blank DL, Kidwell DA. Decontamination procedures for drugs of abuse in hair: are they sufficient? *Forensic Sci Int* 1995; 70: 13-38.
26. Romano G, Barbera N, Lombardo I. Hair testing for drugs of abuse: evaluation of external cocaine contamination and risk of false positives. *Forensic Sci Int* 2001; 123: 119-29.
27. Musshoff F, Madea B. New trends in hair analysis and scientific demands on validation and technical notes. *Forensic Sci Int* 2007; 165: 204-15.
28. Musshoff F, Madea B. Analytical pitfalls in hair testing. *Anal Bioanal Chem.* 2007; 388: 1475-94.
29. Society of Hair Testing. Recommendations for hair testing in forensic cases. *Forensic Sci Int* 2004; 145: 83-4.
30. Schaffer MI, Wang WL, Irving J. An evaluation of two wash procedures for the differentiation of external contamination versus ingestion in the analysis of human hair samples for cocaine. *J Anal Toxicol* 2002; 26: 485-8.
31. Cairns T, Hill V, Schaffer M, Thistle W. Removing and identifying drug contamination in the analysis of human hair. *Forensic Sci Int* 2004; 145: 97-108.
32. Cairns T, Hill V, Schaffer M, Thistle W. Levels of cocaine and its metabolites in washed hair of demonstrated cocaine users and workplace subjects. *Forensic Sci Int* 2004; 145: 175-81.
33. Schaffer M, Hill V, Cairns T. Identification of cocaine-contaminated hair: perspectives on a paper. *J Anal Toxicol* 2007; 31: 172-4.
34. Substance Abuse and Mental Health Services Administration. Notice of proposed revisions to the mandatory guidelines for federal workplace drug testing programs. *Fed Regist* 2004; 69: 19673-732.
35. Nielsen MK, Johansen SS, Dalsgaard PW, Linnet K. Simultaneous screening and quantification of 52 common pharmaceuticals and drugs of abuse in hair using UPLC-TOF-MS. *Forensic Sci Int* 2010; 196: 85-92.

Summary

Pennings EJM. Toxicological investigations of drugs in hair. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk; 2022; 36: 156-61.

Recently, confusion has arisen on the interpretation of the results of toxicological analyses of illicit drugs in human hair. The reason for this is that external contamination of hair with cocaine may lead to absorption into hair to a higher extent than had previously been expected. The extent of absorption seems to be largely dependent on hair porosity. Therefore, adequate washing of the hair sample is needed before the chemical analysis. Scientists, however, do not agree on the best washing procedure to be used. It is clear, however, that decontamination of hair with an organic solvent alone is insufficient and that additional aqueous washings should be included to allow swelling of the hair and removal of contaminating drugs that have entered the hair.

Keywords: toxicology; illicit drugs; hair; analysis; washing procedure